

● 日本国特許庁 (J P) ● 特許出願公開
● 公開特許公報 (A) 昭61-17

① Int. Cl.[°] 分類記号 庁内整理番号 ② 公開 昭和61年(1986)1月6日
A 61 K 31/725 ADU 6864-4C
/ C 06 B 37/00 7133-4C 審査請求 未請求 発明の数 1 (全1頁)

③ 発明の名称 Δコ多糖系癌転移抑制剤

④ 特 願 昭59-118283

⑤ 出 願 昭59(1984)6月11日

⑥ 発 明 者 坂 井 勝 清 東大和市立野3丁目1253番地 生化学工業株式会社東京研
究所内
⑦ 発 明 者 堀 江 克 之 東大和市立野3丁目1253番地 生化学工業株式会社東京研
究所内
⑧ 発 明 者 坂 本 崇 東大和市立野3丁目1253番地 生化学工業株式会社東京研
究所内
⑨ 発 明 者 奥 山 隆 東大和市立野3丁目1253番地 生化学工業株式会社東京研
究所内
⑩ 出 願 人 生化学工業株式会社 東京都中央区日本橋本町2丁目9番地8
⑪ 代 理 人 弁理士 津 国 肇 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

Δコ多糖系癌転移抑制剤

2. 特許請求の範囲

ヒアルロン酸若しくは硫酸ヒアルロン酸又はその塩を有効成分とすることを特徴とするΔコ多糖系癌転移抑制剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、Δコ多糖系癌転移抑制剤に関する。癌の転移には、主として外科療法・放射線療法及び化学療法が実施されているが、癌の再発及び遠隔転移の点で満足すべき治療効果を挙げていない。

この原因の一つは、これらの治療法で癌の原発巣を縮小又は除去し得ても、癌が原発巣とは別の部位、特に肺、肝又は腎臓などの主要臓器に転移増殖し、致命的な結果を招くからである。従って、癌原発巣の縮小を計るか、癌を外科的に切除する療法に加えて、癌の転移を防止することが癌の治療を計る上で極めて重要である。

癌転移の転移は、(a) 発生部位における急速な癌増殖、(b) 血管内への侵入、(c) 特定臓器の毛細血管内への沈着、(d) 血管の内側から外側への浸透、(e) 転移部位での急速な増殖など多くの過程から成っている。原理的には、この中のどれか一つの過程を抑制すれば転移が抑制される筈である。(a) から (e)までの過程は、即ち、血管壁の内側への沈着とそれにつづく外側への浸透、そして増殖は、一定数の癌細胞を直接マウスの肺臓へ注射し、時間を通ってそれら癌細胞の増殖と、補助となる臓器に発生する転移コロニーの数を組織学的・生化学的に定量する手段があり、多くの例が報告されている。

例えば、Sachs [A. Nat. et al.: Cancer Research, 11, 1048-1051(1951)]は、マウスメラノーマ(悪性黒色細胞癌)細胞50,000個を0.75 ml/8マウスの肺臓に注射し、10日後に肺を切除して転移によって生じたメラノーマ細胞の黒色コロニーの数をカウントした場合、そのコロニー数の平均値はメラノーマ細胞の細胞表面化学組成

特開可61-17(2)

と密接な関係があることを報告している。

また、上述したように癌細胞が転移するためには、その癌細胞が血管内皮に接着する過程が不可欠であるが、この接着は癌細胞の表面に存在する分子と血管内皮マトリックスを構成する分子との相互認識、結合によって引き起こされることが多くの実験事実によって明らかにされている (R. E. Knorr, et al.: Proceedings of National Academy of Sciences, U.S.A., 77: 5766-5769 (1978))。

一方、Gunnら (Y. Gunn, et al.: Can. J., 68: 888-893 (1991)) は、FMS A 癌細胞に転移能が高いほど宿主マウスの生存日数が短くなることを証明している。更に、Kinoshitaら (S. Kinoshita, et al.: Cancer Research, 51, 1947-1954 (1991)) は、FMS A 癌細胞の転移能が高いほど癌細胞にヒアルロン酸 (以下「HA」という) を多量にもつことを報告している。一般的に、HA は癌細胞の癌細胞の HA 受容体や癌細胞表面及び生体内の各種組織・器官に存在するフィブロネクチンやコラーゲン

ンに細胞接着を示すことが明らかにされている。

また、HA はある程度マクロファージの貪食作用を阻害すること (R. A. Salazar: Immunology, 55, 439-449 (1986))、更に非常に強い程度では *in vitro* 及び *in vivo* でマクロファージや多核白血球 (PMN) の運動量、代謝速度、貪食作用を増加させることも知られている (L. E. Harrison, et al.: Scand. J. Immunol., 33, 649-659 (1990))。

しかしながら、HA の癌転移抑制剤としての作用に関する報告は存在しない。

また、多量糖化多糖体が癌細胞増殖や癌転移抑制作用を有することが報告 (S. Yashara et al.: Can. J., 64: 888 (1978) ; K. Ishii, S. Saito et al.: Can. J., 69: 888 (1971) ; 安田重典: 日医大誌, 第47巻第 8号, 497-504 (1990)) されているが、これは多量糖化多糖体の有する抗血管新生作用や癌細胞増殖抑制作用によるところが大きく、HA はこれらの作用は殆どもっていない。

そこで、本発明者は、動物に HA を投与すれば、

ば、これが血管内皮の HA 受容体や表面にでているフィブロネクチンに結合し、癌細胞が血管内皮へ接着することを防止し、また一度接着した癌細胞と細胞的に結合して、その癌細胞を内皮より剥離させると共に、HA の有する免疫増進作用で癌細胞を排除できるのではいかと推定し、鋭意研究を行った結果、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明のムコ多糖系癌転移抑制剤は、HA 若しくは類似 HA 又はその断片を有効成分とするものである。

以下、本発明を更に詳細に説明する。

本発明に用いる HA は、通常、癌腫、癌子体など特にその由来は限定されず、通常、分子量数千から数百万のものを用いる。その調製法としては、特開第 52-145594号、同 52-195188号、同 54-57169号及び同 55-74798号公報記載の方法などが挙げられる。

本発明において、類似 HA とは、HA 又はその断片を有効成分として投与して成る製

剤 HA であって、類似度が HA のグルクロン酸と N-アセチルグルコサミンから成る繰り返し二糖 (以下「HA の繰り返し二糖」という) 1000個当たり以上であるものであり、特開第 50-59449号明細書に詳述されている。

本発明において、多官能性エポキシ化合物とは、エポキシ基を少なくとも1個有する化合物であって、その他に、エポキシ基を含めて、HA を類似するに類似した官能基を1個以上有する化合物をいう。

かかる化合物としては、例えば、ヘロメチルオキセラン化合物及びビスエポキシ化合物などが挙げられる。ヘロメチルオキセラン化合物としては、エポキシロヒドリン、エポキシプロヒドリン、 β -メチルエポキシロヒドリン及び β -メチルエポキシプロヒドリンなどが挙げられる。ビスエポキシ化合物としては、1,2-ビス(2,3-エポキシプロポキシ)エタン、1,4-ビス(2,3-エポキシプロポキシ)ブタン、1,6-ビス(2,3-エポキシプロポキシ)ヘキサン及びビ

通常、分子量は数千から数万のものA又はその塩を、0.5%以上、好ましくは1.0%以上の濃度で、アルカリ水溶液に溶解し、水溶性有機溶剤を全重量の30%以上、好ましくは50%以上になるように加える。アルカリ水溶液は、pH 8~14であることが好ましく、pH 12~14であることが更に好ましい。アルカリとしては、通常、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウムなどの金属水酸化物及び炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどの金属炭酸塩等が挙げられる。水溶性有機溶剤としては、メタノール、エタノール、イソプロパ

無機質 A 及びその塩類、ヒアルロニダーゼに対して抵抗性を示すと共に、質 A の有する種々の特性も維持している。

本発明で用いる無機酸が、 H_2A の酸より二倍 1000 個より多量である無機酸 H_2A を得るには、 H_2A の酸より二倍 1 モルに対し、多官能性エポキシ化合物 1 モル以上用いられたい。分子量 100

水素臭の腐敗等抑制剤の適用に就ては、硝酸
劑、硝酸劑、酸劑、銨劑、カプセル劑、シロップ
劑、糖漿劑等しくは酸劑等の劑型にして、又は厚
衣の衣を經口投与してもよいし、酸劑として腸
腔内投与、腸腔内投与、門腔内投与、胸腔腔内投
与、腔内投与、皮下投与又は腔部内投与しても
よい。また、坐劑等の劑型にして、経腸又は非経
口投与してもよい。經口、経腸等しくは非経口投
与に適した医薬用の有機又は無機の、固体又は液
体の固体等しくは湯散劑を水素臭の腐敗等抑制剤
の調製に用いることができる。水、ゼラチン、乳
糖、でんぷん、ステアリン酸マグネシウム、タル
ク、動物油、ペンシルアルコール、ガム、ポリ
リアルキレングリコール、石油樹脂、やし油、タ

ノリン又は塩基に用いられる他のキャリアー（担体）はすべて、本発明に用いるH Aの担体として適用することができる。また、安定剤、阻害剤、乳化剤等、製造法を変えたり、配合剤の種類をH Aを溶解するための溶媒を補助溶媒として適用することもできる。

臨床投与量は、H Aの分子量によって異なるが、通常、経口投与により用いる場合には、成人に対しH A又は無水H Aとして、1日20mg〜5g内服するのが好ましく、年齢、病態、症状により適宜増減することが更に好ましい。前記1日量の無水H Aは、1日に1回、又は適宜の間隔を置いて1日に2回しくは3回に分けて投与してもよいし、同次投与してもよい。

また、注射剤として用いる場合には、成人に対しH A又は無水H Aとして、1回量10mg〜2.0gを適量投与又は同次投与することが好ましい。

本発明の無水H Aは、一般の無水物、例えば、アルキル化剤、代謝阻害剤等にみられる骨髄障害、心毒性、脱毛等の副作用がなく、前記

作用や用量による組織の損傷をすみやかに修復する作用を併有している。更に、本発明の無水H Aは、阻害剤と共に適宜に投与することができる他の薬物として有効な成分、例えば、一般の抗腫瘍剤又は抗炎症剤、抗生物質、止血剤若しくは抗消化性潰瘍剤等と併用して相互作用をもたないという長所を有する。

本発明の無水H Aは、その製造からみて、特にプロテオグリカンを原料に合成し、無水H Aに含有している種々の阻害剤の無水H Aに用いられるが、特に、高阻害性の阻害剤、例えば、阻害剤（メラノーム）、阻害剤（フィブロザルコーム）、リンパ肉腫（リンパノーマ）、リンパ肉腫（リンパノーマ）等に対して優れた効果が期待され、また外科手術時には阻害剤を必要とするので、このような場合にも、優れた効果を示すと推定される。

以下に、本発明を阻害剤、抗腫瘍剤及び抗炎症剤に基づいて更に詳細に説明するが、これらは、本発明の範囲を何ら制限するものではない。

なお、以下の阻害剤等において、阻害剤、クロン酸（グルクロン酸、含有、含有量、含有量の測定並びに抗腫瘍性試験、抗炎症性試験、阻害剤試験、それぞれ、「日経10」一般試験法第20項阻害剤試験法、2. Biochem. J. Biol. Chem., 122, 100 (1947), 「日経10」一般試験法第20項阻害剤試験法、O.E. Leary, et al.; J. Biol. Chem., 122, 205 (1947), 「日経10」デキストラン40注射剤、「日経10」一般試験法第20項阻害剤試験法、衛生試験法（日本薬学会編）（1980年）1.4 阻害剤試験法記載の方法に従って行った。

阻害剤1. H Aの抽出・精製

阻害剤から別り出した後、直ちに凍結した阻害剤1.0gを加え、0.05%塩化セチルピリジニウム溶液3mlを加え、35℃に3時間保った後、凍結を分解、ミントし、水3mlを加え、プロリレン（上野化学工業株式会社；プロテアーゼの商品名）20万単位を加え35℃に3時間保ち、凍結して阻害剤24000gを得た。この阻害剤24000gに塩化セチル

リウム170gを加え、凍結し、次いで88%エタノール24000gを加え、生じた沈澱を分取・乾燥してH A 0.1gを得た。

更に、このH Aを1%の濃度になるように凍結した生理食塩水に溶解し、一般阻害剤、例えば、阻害剤を行ないH Aの生理食塩水溶液を調製した。

得られたH A溶液及びH A生理食塩水溶液の特性は次の通りであった。

H A溶液（阻害剤 No. H A-1）

阻害剤：20.0

クロン酸含有：40.4

含有量：0.40

含有量：0.01

阻害剤：なし

1%生理食塩水溶液

H A 濃度：1.00%

阻害剤：なし

阻害剤：一般阻害剤 0.01/g

含有 0.01/g

項目	日 本 船 隻						1955年度実績	
	船名	噸位 (噸)	船主	船種	航路	出帆回 数	出帆回 数	噸位 噸
日 本 船 隻	2.5	68.20	2.68	0.000	-	1.02	-	0
日 本 船 隻	0.5	68.40	2.52	0.032	-	1.00	-	0
日 本 船 隻	0.5	68.70	2.60	0.030	-	1.06	-	0

例 17 (7)

ヒザ同様に腐蝕物質として、ブラジキニン又はアセチルコリンのそれぞれ 20 μ g 又は 20g を γ -アミノ酪氨酸 2.0g/0.5g 生理食塩水と同時に投与し、投与後の後肢荷重の変動を随時的に測定した。また一例として γ -アミノ酪氨酸 A の代りに (1) で原料として用いた γ -アミノ酪氨酸 20g/0.5g 生理食塩水を用いた。前掲の如く、正常時の 50% 荷重回復時間をもって比較した。結果を表 2 に示す。

表 2

腐 蝕 物 質	50% 回復時間
ブラジキニン	0.0 分
ブラジキニン + γ -アミノ酪氨酸 A	0.4 分
ブラジキニン + γ -アミノ酪氨酸 A	4.0 分
アセチルコリン	21 分
アセチルコリン + γ -アミノ酪氨酸 A	11 分
アセチルコリン + γ -アミノ酪氨酸 A	11 分

表 2 から、 γ -アミノ酪氨酸 A は、 γ -アミノ酪氨酸と同様に優れた腐蝕効果を有することがわかる。

例 17. γ -アミノ酪氨酸 A の合成

γ -アミノ酪氨酸 (分子量 1.7×10^3) の 1% 水溶液に 10% 水酸化ナトリウム 0.1g とメタノール 50g を加えた。攪拌下、エビタロルヒドリン 170g を加えて、20℃ で 24 時間反応後、反応液を酢酸で pH 0.5 としてエタノール 100g を加えて白色沈澱を得た。沈澱を採取し、減圧乾燥した。

収量 99%

γ -アミノ酪氨酸 2 個
1000 個当りの収量 7.0

1% 生理食塩水溶液 24000 センチグアーズ
における濃度
(20℃, 予知精度 1.0×10^{-4})

オムニオン濃度 0.01

元素分析値 C : 61.00 %, H : 4.70 %, N : 0.30 %, S : 0.40 %

例 18. 腐蝕剤 A の製造

分子量 9.7×10^3 及び 7.0×10^3 の γ -アミノ酪氨酸 100g を、それぞれ、1% 水酸化ナトリウム 0.0g に溶かした溶液に、エタノール 50g とエビタロルヒドリン、それぞれ、25, 50, 100, 200 μ g を加え、40℃ で 2 時間反応した。反応後は

例 18 (1) に準じて後処理を行った。

また、分子量 1.7×10^3 の γ -アミノ酪氨酸 70g を 1% 水酸化ナトリウム 7.0g に溶かした溶液にエタノール 7.0g とエビタロルヒドリン 40 μ g 又は 80 μ g を加え、40℃ で 2 時間反応した。更に、上記反応と同時に同じ条件で (2) のエビタロルヒドリン (アマキヤム・グアベン社から入手) を用いて反応を行ない、この腐蝕化合物の腐蝕特性から腐蝕率を算出した。腐蝕率と濃度との関係を表 3 に示す。

表 3 から、 γ -アミノ酪氨酸 A においては、腐蝕率と濃度が比例関係にあることがわかる。

表 3

腐蝕剤 A (97%)	エビタロルヒドリン (mg)	腐蝕率 (%)	腐蝕率 (%)	腐蝕率 (%)	腐蝕率 (%)
1.7 $\times 10^3$	0	0	0	0	0
	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
7.0 $\times 10^3$	0	0	0	0	0
	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
1.7 $\times 10^3$	0	0	0	0	0
	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

・この腐蝕剤 A は、本実験で得られた。

特開昭61-17(8)

実験例1. α -ヒドロキシ安息香酸のヒアルロニダーゼ活性

分子量 7.2×10^5 のHAナトリウムを原料として実験例0(1)に準じて次に示す3種の α -糖糖質Aを合成した。

(A)HAの糖り置し二糖 1000個当りの糖糖質	10
1%生理食塩水溶液 における粘度 (20℃, ずり速度 1.0×10^{-4})	40000
ポムートン指数	0.77
(B)HAの糖り置し二糖 1000個当りの糖糖質	11.5
1%生理食塩水溶液 における粘度 (20℃, ずり速度 1.0×10^{-4})	20000
ポムートン指数	0.70
(C)HAの糖り置し二糖 1000個当りの糖糖質	7.5
1%生理食塩水溶液 における粘度 (20℃, ずり速度 1.0×10^{-4})	8000
ポムートン指数	0.61

これらの3種の α -糖糖質A及び合成に使用したHAナトリウムを、それぞれ、0.10g(0.05g)に1%の濃度で溶解し、恒温(20℃, ずり速度 1.0×10^{-4})したところ、次の通りであった。

α -糖糖質A(A)	40000センチポアーズ
α -糖糖質A(B)	27000センチポアーズ
α -糖糖質A(C)	8000センチポアーズ
HAナトリウム	1000センチポアーズ

これらの溶液に0.05g量ずつになるように牛乳丸ヒアルロニダーゼを加え30℃で反応させ、15、30、45、70分後に粘度を測定し、反応前の粘度に対する割合を算出した。

結果を図4に示す。図4において、□印、△印、○印及び◇印は、それぞれ、 α -糖糖質A(A),(B),(C)及びHAナトリウムの糖糖質の反応時間における反応前の粘度に対する割合を示す。

図4から、本発明に用いる α -糖糖質Aは、HAに比し、ヒアルロニダーゼに対する反応性が高く、その糖糖質、糖糖質が高いほど顕著である

ことがわかる。

実験例2. 糖糖質の濃度濃度に対する影響

PH117p-151糖糖質 1×10^5 糖糖質を含む糖糖質溶液(イーグル 888糖糖質に牛乳丸糖糖質10%含む)1.0gと各糖糖質A糖糖質 0.10gを含む糖糖質溶液を、糖糖質溶液シャーレ(ナルヤ社製ペトリイ137)に 5% CO₂ - 95% air、37℃の条件で培養した。培養開始後、3日目及び5日目の糖糖質を測定した。実験は、1群4シャーレとして、対照群には、生理食塩水を糖糖質に添加したものを用いた。

結果を図4に示す。

糖糖質	HA濃度 (g/L)	糖糖質濃度 (X 10 ⁴ g/L)				糖糖質濃度 (g/L)
		7.5	14	11	10	11.4±2.0
HA-A	HA-A-0	25	0	11	10	11.7±2.2
	HA-A-1	25	0	10	10	8.5±2.5
	HA-A-2	25	0	10	10	11.2±4.1
	HA-A-3	25	0	10	10	11.2±1.1
HA-B	HA-B-0	25	0	10	10	24.2±7
	HA-B-1	25	0	10	10	24.7±5.0
	HA-B-2	25	0	10	10	24.2±7
	HA-B-3	25	0	10	10	22.5±2.0
HA-C	HA-C-0	25	0	10	10	24.2±5
	HA-C-1	25	0	10	10	21.5
	HA-C-2	25	0	10	10	21
	HA-C-3	25	0	10	10	21.5

表 4 から、HA は細胞の増殖に対して何ら影響を及ぼさないことがわかる。

実験例 3. 細胞増殖の促進能に及ぼす影響

100mm フォルコン培養皿 (100mm Falcon tissue culture dish) で培養した P815/p-15A 細胞をダルベッコリン細胞培養液 (Dulbecco Phosphate Balanced Solution; Ca, Mg-free) (以下「PDS (-)」という) で洗浄し、ヘンクス細胞液 (Hanks Balanced Salt Solution; Ca, Mg-free) にトリプシン 0.1% 及びエチレンジアミン四酢酸 0.04% を添加した溶液 (以下「TDS」という) で 37℃ において 5 分処理した。同量の培養液 [イーグル H29 増進液 (Eagle's H29 Essential Medium) に 10% になるように牛胎児血清を加えた溶液] を加え、1200rpm で 5 分遠心し、同培養液で 5×10^5 個細胞/0.8 に調整した (A 局用細胞)。

一方、100mm フォルコンペトリ皿 (100mm Petri dish) で培養した P815/p-15A 細胞を 1200rpm で 5 分遠心し、前記培養液で 5×10^5 個細胞/0.8 に調整した (B 局用細胞)。

2 及び細胞増殖度 0.4 (分子量 1000) の HA-6 の方が顕著であることがわかる。

実験例 4. 急性毒性試験

(1) マウスにおける HA-2 投与後の組織的死亡数と LD₅₀ 値を表 6 に示す。

HA 局用細胞と B 局用細胞を 10⁵ ずつタイプ I のコラーゲン (以下「CoI」という)、フィブロブラスチン (以下「FPI」という) 又はラミニン (以下「LVI」という) で被覆した 35mm の培養皿に入れ、 1×10^5 細胞/培養皿に調整した。各種 HA を 100/0.8 になるように加え、37℃ で 20 時間培養後、PDS (-) で洗浄し、TDS で 37℃ において 15 分処理して細胞数を測定した。結果を表 5 に示す。

表 5

HA 濃度	HA-2 細胞増殖度 15.0 分子量 94 万	HA-6 細胞増殖度 0.4 分子量 1000	HA-7 細胞増殖度 0.075 分子量 1500	対 照
CoI	100	91	88	84
FPI	88	88	88	91
LVI	7	2	88	78

表 5 から、本発明の腐蝕性抑制剤は、特に LVI に対する細胞増殖の促進能を著しく低下させ、その効果は、細胞増殖度 0.075 (分子量 1500) の HA-7 に比し、細胞増殖度 15.0 (分子量 94 万) の HA-

表 6

投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値 (mg/kg)		LD ₅₀ 値 (mg/kg)		LD ₅₀ 値 (mg/kg)		LD ₅₀ 値 (mg/kg)	
	1-3	4-6	7-9	10-11	12-14	15-17	18-20	21-23
HA-2	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-6	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-7	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-8	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-9	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-10	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-11	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-12	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-13	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-14	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-15	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-16	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-17	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-18	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-19	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-20	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-21	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-22	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-23	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-24	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-25	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-26	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-27	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-28	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-29	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-30	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-31	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-32	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-33	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-34	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-35	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-36	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-37	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-38	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-39	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-40	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-41	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-42	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-43	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-44	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-45	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-46	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-47	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-48	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-49	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-50	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-51	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-52	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-53	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-54	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-55	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-56	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-57	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-58	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-59	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-60	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-61	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-62	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-63	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-64	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-65	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-66	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-67	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-68	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-69	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-70	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-71	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-72	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-73	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-74	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-75	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-76	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-77	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-78	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-79	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-80	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-81	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-82	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-83	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-84	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-85	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-86	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-87	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-88	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-89	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-90	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-91	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-92	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-93	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-94	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-95	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-96	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-97	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-98	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-99	0	0	0	0	0	0	0	0
HA-100	0	0	0	0	0	0	0	0

(2) ラットにおける肝A-2投与後の臨時動員
亡数とLD₅₀値を表7に示す。

特発性61-17 (10)

表 7

投与 量	投与 回数	動員 数	死 亡 数 (臨時動員)					LD ₅₀ 値 (mg/kg)
			1-3	4-6	7-9	10-14	15-21	
0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
1	1	1	0	0	0	0	0	> 2000
2	2	2	0	0	0	0	0	> 2000
3	3	3	0	0	0	0	0	> 2000
4	4	4	0	0	0	0	0	> 2000
5	5	5	0	0	0	0	0	> 2000
6	6	6	0	0	0	0	0	> 2000
7	7	7	0	0	0	0	0	> 2000
8	8	8	0	0	0	0	0	> 2000
9	9	9	0	0	0	0	0	> 2000
10	10	10	0	0	0	0	0	> 2000
11	11	11	0	0	0	0	0	> 2000
12	12	12	0	0	0	0	0	> 2000
13	13	13	0	0	0	0	0	> 2000
14	14	14	0	0	0	0	0	> 2000
15	15	15	0	0	0	0	0	> 2000
16	16	16	0	0	0	0	0	> 2000
17	17	17	0	0	0	0	0	> 2000
18	18	18	0	0	0	0	0	> 2000
19	19	19	0	0	0	0	0	> 2000
20	20	20	0	0	0	0	0	> 2000
21	21	21	0	0	0	0	0	> 2000
22	22	22	0	0	0	0	0	> 2000
23	23	23	0	0	0	0	0	> 2000
24	24	24	0	0	0	0	0	> 2000
25	25	25	0	0	0	0	0	> 2000
26	26	26	0	0	0	0	0	> 2000
27	27	27	0	0	0	0	0	> 2000
28	28	28	0	0	0	0	0	> 2000
29	29	29	0	0	0	0	0	> 2000
30	30	30	0	0	0	0	0	> 2000
31	31	31	0	0	0	0	0	> 2000
32	32	32	0	0	0	0	0	> 2000
33	33	33	0	0	0	0	0	> 2000
34	34	34	0	0	0	0	0	> 2000
35	35	35	0	0	0	0	0	> 2000
36	36	36	0	0	0	0	0	> 2000
37	37	37	0	0	0	0	0	> 2000
38	38	38	0	0	0	0	0	> 2000
39	39	39	0	0	0	0	0	> 2000
40	40	40	0	0	0	0	0	> 2000
41	41	41	0	0	0	0	0	> 2000
42	42	42	0	0	0	0	0	> 2000
43	43	43	0	0	0	0	0	> 2000
44	44	44	0	0	0	0	0	> 2000
45	45	45	0	0	0	0	0	> 2000
46	46	46	0	0	0	0	0	> 2000
47	47	47	0	0	0	0	0	> 2000
48	48	48	0	0	0	0	0	> 2000
49	49	49	0	0	0	0	0	> 2000
50	50	50	0	0	0	0	0	> 2000
51	51	51	0	0	0	0	0	> 2000
52	52	52	0	0	0	0	0	> 2000
53	53	53	0	0	0	0	0	> 2000
54	54	54	0	0	0	0	0	> 2000
55	55	55	0	0	0	0	0	> 2000
56	56	56	0	0	0	0	0	> 2000
57	57	57	0	0	0	0	0	> 2000
58	58	58	0	0	0	0	0	> 2000
59	59	59	0	0	0	0	0	> 2000
60	60	60	0	0	0	0	0	> 2000
61	61	61	0	0	0	0	0	> 2000
62	62	62	0	0	0	0	0	> 2000
63	63	63	0	0	0	0	0	> 2000
64	64	64	0	0	0	0	0	> 2000
65	65	65	0	0	0	0	0	> 2000
66	66	66	0	0	0	0	0	> 2000
67	67	67	0	0	0	0	0	> 2000
68	68	68	0	0	0	0	0	> 2000
69	69	69	0	0	0	0	0	> 2000
70	70	70	0	0	0	0	0	> 2000
71	71	71	0	0	0	0	0	> 2000
72	72	72	0	0	0	0	0	> 2000
73	73	73	0	0	0	0	0	> 2000
74	74	74	0	0	0	0	0	> 2000
75	75	75	0	0	0	0	0	> 2000
76	76	76	0	0	0	0	0	> 2000
77	77	77	0	0	0	0	0	> 2000
78	78	78	0	0	0	0	0	> 2000
79	79	79	0	0	0	0	0	> 2000
80	80	80	0	0	0	0	0	> 2000
81	81	81	0	0	0	0	0	> 2000
82	82	82	0	0	0	0	0	> 2000
83	83	83	0	0	0	0	0	> 2000
84	84	84	0	0	0	0	0	> 2000
85	85	85	0	0	0	0	0	> 2000
86	86	86	0	0	0	0	0	> 2000
87	87	87	0	0	0	0	0	> 2000
88	88	88	0	0	0	0	0	> 2000
89	89	89	0	0	0	0	0	> 2000
90	90	90	0	0	0	0	0	> 2000
91	91	91	0	0	0	0	0	> 2000
92	92	92	0	0	0	0	0	> 2000
93	93	93	0	0	0	0	0	> 2000
94	94	94	0	0	0	0	0	> 2000
95	95	95	0	0	0	0	0	> 2000
96	96	96	0	0	0	0	0	> 2000
97	97	97	0	0	0	0	0	> 2000
98	98	98	0	0	0	0	0	> 2000
99	99	99	0	0	0	0	0	> 2000
100	100	100	0	0	0	0	0	> 2000

() : 0.05% 0.001% 0.0001%

(3) ラットにおける肝A-2の臨時動員亡数と
LD₅₀値を表8に示す。

表 8

投与 量	投与 回数	投与量 (mg/kg)	投与回数	死 亡 数 (臨時投与)					LD ₅₀ 値 (mg/kg)
				1-3	4-6	7-9	10-14	15-21	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0	0	0	> 2000
0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 2000
	1	1	0	0	0	0	0	0	> 2000
	2	2	0	0	0	0			

表 10-17 (11)

(1) マウスにおけるH A-8投与後の肺動脈
圧と心拍出量を測定する。

測定項目	測定回数			
	1-3	4-6	7-9	10-11
肺動脈圧 (mmHg)	12	12	12	12
心拍出量 (ml/min)	200	200	200	200
測定時間	10	10	10	10

実験例 H A-7とH A-8の肺動脈圧測定

右肺動脈の長さをH A又はH A-8の生用食塩水溶液をマウスC 3日/日に肺動脈内に投与し、30分後マウス乳歯由来の高放射能同位体 $^{45}\text{Ca}/p-100 \ 7.5 \times 10^5$ をマウス尾静脈より注入した。

注入3時間後に1回目のH A又はH A-8の生用食塩水溶液の肺動脈内投与を行い、それを合せて1日2回計4日間H A又はH A-8の生用食塩水溶液を肺動脈内投与した。

肺動脈投与21日後にマウスを殺し、肺を摘出して肺の放射能を計測した。

なお、対照群には、H A又はH A-8の生用食塩水のみを投与した。結果を表10に示す。

表 10

実験群	投与量 (mg/マウス/日)	測定回数	肺に転移した 放射能の割合	
			平均値	対照群に 対する百分率
H A-7	0.075	20	70.5	95.0
	0.0	20	74.0	93.2
H A-8	0.4	10	29.1	29.0
	0.0	10	24.0	20.0
H A-5	0.0	10	29.0	27.0
	0.0	10	19.3	24.1
H A-4	2.5	0.01	20.0	20.0
	0.10	10	19.0	17.4
	1.00	10	10.4	10.0
H A-3	7.0	0.20	10	10.0
H A-2	10.0	0.20	20	2.0
	0.00	10	0.4	11.0
H A-1	20.0	0.20	10	2.0
H A-1	10.0	0.20	10	4.2
対 照 群		40	60.0	100

特開昭61-17(12)

図 1

表1.0から、本発明の結晶性樹脂は優れた結晶性樹脂であることを示すことができる。

4. 同様の結果を説明

図1は、 α - β - γ - δ - ϵ - ζ - η - θ - ι - κ - λ - μ - ν - ξ - \omicron - π - ρ - σ - τ - υ - ϕ - χ - ψ - ω のグラフを示す図である。図2は、 α - β - γ - δ - ϵ - ζ - η - θ - ι - κ - λ - μ - ν - ξ - \omicron - π - ρ - σ - τ - υ - ϕ - χ - ψ - ω の結晶性樹脂を示す図である。図3は、 α - β - γ - δ - ϵ - ζ - η - θ - ι - κ - λ - μ - ν - ξ - \omicron - π - ρ - σ - τ - υ - ϕ - χ - ψ - ω の結晶性樹脂を示す図である。図4は、各種 α - β - γ - δ - ϵ - ζ - η - θ - ι - κ - λ - μ - ν - ξ - \omicron - π - ρ - σ - τ - υ - ϕ - χ - ψ - ω をセパレート装置を用いたときの結晶性樹脂と時間との関係を示す図である。

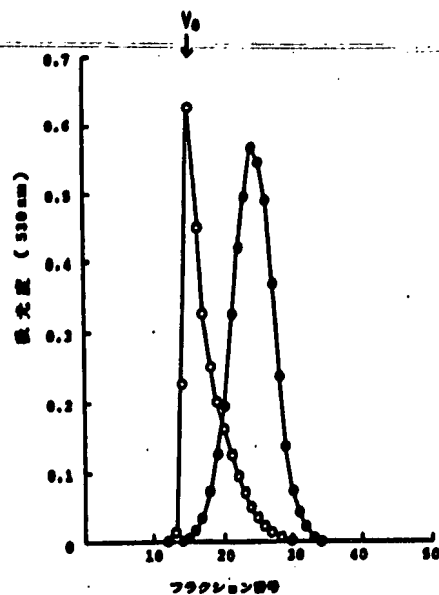


図 2

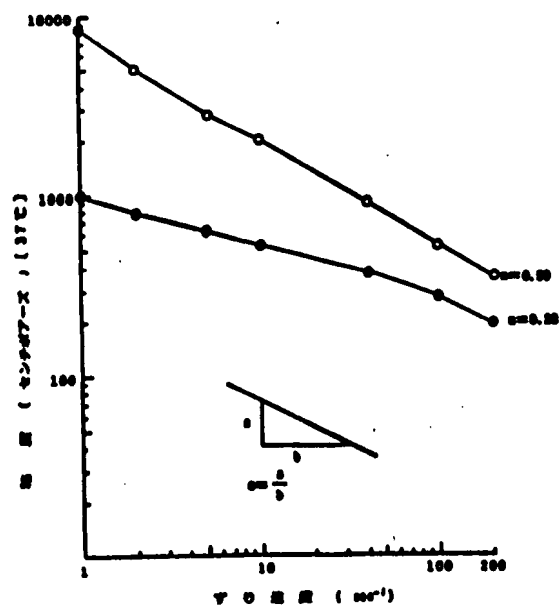
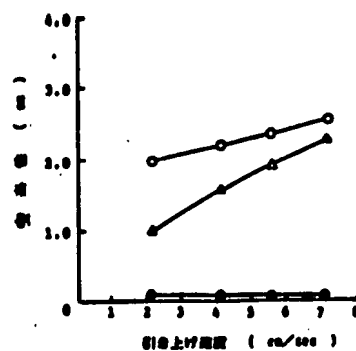


図 3



特開昭61-17(18)

図 4

